

食安発第1026004号
平成19年10月26日

各

都道府県知事 保健所設置市長 特別区長

 殿

厚生労働省医薬食品局食品安全部長

食品に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質
の試験法の一部改正について

今般、農薬、飼料添加物及び動物用医薬品に関する試験法に係る知見の集積等を踏まえ、「食品に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法について」（平成17年1月24日付け食安発第0124001号当職通知。以下「試験法通知」という。）の別添の一部を下記のとおり改正することとしたので、関係者への周知方よろしく願います。

なお、改正後の試験法を実施するに際しては、試験法通知別添の第1章総則部分を参考とされたい。

記

1. 目次を別紙1のとおり改める。なお、改正部分を下線で示す。
2. 第3章個別試験法中「ジフルフェニカン試験法」に係る部分の次に別紙2のとおり「シフルメトフェン試験法（農産物）」を加え、「ジメトモルフ試験法」を「ジメトモルフ試験法（農産物）」に改め、「ジメトモルフ試験法（農産物）」に係る部分の次に別紙3のとおり「ジメトモルフ試験法（畜水産物）」を加える。
3. 第2章一斉試験法及び第3章個別試験法に掲げる各試験法（「アセタミプリド試験法」、「アゾキシストロビン、クミルロン及びシメコナゾール試験法（畜水産物）」、「アルジカルブ、アルジカルブスルホキシド、アルドキシカルブ、エチオフェンカルブ、オキサミル、カルバリル、ピリミカーブ、フェノブカルブ及びベンダイオカルブ試験法」、「エマメクチン安息香酸塩試験法」、「鉛試験法」、「ヒ素試験法」、「ピリチオバックナトリウム塩試験法」、「ベンジルペニシリン試験法」、「ベンチアバリカルブイソプロピル試験法」、「メタルデヒド試験法（農産物）」及び「リン化水素試験法（農産物）」を除く。）の「3. 試薬、試液」の項中「総則の2」を「総則の3」に改め、同章に掲げる試験法のうち「エマメクチン安息

香酸塩試験法」の「4. 試薬、試液」の項中「総則の2」を「総則の3」に改め、同章に掲げる試験法のうち「鉛試験法」の「1. 試薬、試液」の項中「総則の2」を「総則の3」に改め、同章に掲げる試験法のうち「ベンジルペニシリン試験法」の「2. 試薬、試液」の項中「総則の2」を「総則の3」に改める。

目 次

第 1 章 総則

第 2 章 一斉試験法

- ・ GC/MS による農薬等の一斉試験法（農産物）
- ・ LC/MS による農薬等の一斉試験法（農産物）
- ・ LC/MS による農薬等の一斉試験法（農産物）
- ・ GC/MS による農薬等の一斉試験法（畜水産物）
- ・ LC/MS による農薬等の一斉試験法（畜水産物）
- ・ HPLC による動物用医薬品等の一斉試験法（畜水産物）
- ・ HPLC による動物用医薬品等の一斉試験法（畜水産物）
- ・ HPLC による動物用医薬品等の一斉試験法（畜水産物）

第 3 章 個別試験法

- ・ BHC、 γ -BHC、DDT、アルドリン及びディルドリン、エタルフルラリン、エトリジアゾール、キントゼン、クロルデン、ジコホール、テクナゼン、テトラジホン、テフルトリン、トリフルラリン、ハルフェンプロックス、フェンプロパトリン、ヘキサクロロベンゼン、ヘプタクロル、ベンフルラリン並びにメトキシクロール試験法
- ・ 2,4-D、2,4-DB 及びクロプロップ試験法
- ・ 2,2-DPA 試験法
- ・ DCIP 試験法
- ・ DBEDC 試験法
- ・ EPN、アニロホス、イサゾホス、イプロベンホス、エチオン、エディフェンホス、エトプロホス、エトリムホス、カズサホス、キナルホス、クロルピリホス、クロルピリホスメチル、クロルフェンピンホス、シアノホス、ジスルホトン、ジメチルピンホス、ジメトエート、スルプロホス、ダイアジノン、チオメトン、テトラクロルピンホス、テルブホス、トリアゾホス、トリブホス、トルクロホスメチル、パラチオン、パラチオンメチル、ピペロホス、ピラクロホス、ピラゾホス、ピリダフェンチオン、ピリミホスメチル、フェナミホス、フェントロチオン、フェンスルホチオン、フェンチオン、フェントエート、ブタミホス、プロチオホス、プロパホス、プロフェノホス、プロモホス、ベンスリド、ホキシム、ホサロン、ホスチアゼート、ホスファミドン、ホスメット、ホレート、マラチオン、メカルバム、メタクリホス、メチダチオン及びメピンホス試験法
- ・ EPTC 試験法
- ・ MCPA 及びジカンバ試験法
- ・ Sec-ブチルアミン試験法
- ・ アクリナトリン、シハロトリン、シフルトリン、シベルメトリン、デルタメトリン及びトラロメトリン、ピフェントリン、ピレトリン、フェンバレレート、フルシトリネート、フルバリネート並びにベルメトリン試験法
- ・ アシベンゾラルSメチル試験法
- ・ アジムスルフロソ、ハロスルフロソメチル及びフラザスルフロソ試験法
- ・ アシュラム試験法
- ・ アセキノシル試験法

- ・ アセタミプリド試験法
- ・ アセフェート、オメトエート及びメタミドホス試験法
- ・ アゾキシストロピン試験法（農産物）
- ・ アゾキシストロピン、クミルロン及びシメコナゾール試験法（畜水産物）
- ・ アニラジン試験法
- ・ アミトラス試験法
- ・ アラクロール、イソプロカルブ、クレソキシムメチル、ジエトフェンカルブ、テニルクロール、テブフェンピラド、パクロブトラゾール、ピテルタノール、ピリプロキシフェン、ピリミノバックメチル、フェナリモル、ブタクロール、フルトラニル、プレチラクロール、メトラクロール、メフェナセット、メプロニル及びレナシル試験法
- ・ アラニカルブ試験法
- ・ アルジカルブ、アルジカルブスルホキシド、アルドキシカルブ、エチオフェンカルブ、オキサミル、カルバリル、ピリミカーブ、フェノブカルブ及びベンダイオカルブ試験法
- ・ アルベンダゾール、オキシベンダゾール、チアベンダゾール、フルベンダゾール及びメベンダゾール試験法
- ・ アンプロリウム及びデコキネート試験法
- ・ イオドスルフロンメチル、エタメツルフロンメチル、エトキシスルフロン、シノスルフロン、スルホスルフロン、トリアスルフロン、ニコスルフロン、ピラソスルフロンエチル、プリミスルフロンメチル、プロスルフロン及びリムスルフロン試験法
- ・ イソウロン、ジウロン、テブチウロン、トリフルムロン、フルオメツロン及びリニューロン試験法
- ・ イソフェンホス試験法
- ・ イソメタミジウム試験法
- ・ イナベンフィド試験法
- ・ イプロジオン試験法
- ・ イベルメクチン、エブリノメクチン及びモキシデクチン試験法
- ・ イマザモックスアンモニウム塩試験法
- ・ イマザリル試験法
- ・ イマゾスルフロン及びベンスルフロンメチル試験法
- ・ イミノクタジン試験法
- ・ イミベンコナゾール試験法
- ・ インダノファン試験法
- ・ ウニコナゾールP試験法
- ・ エスプロカルブ、クロルプロファム、チオベンカルブ、ピリブチカルブ及びペンディメタリン試験法
- ・ エチクロゼート試験法
- ・ エチプロール試験法
- ・ エテホン試験法
- ・ エトキサゾール試験法
- ・ エトキシキン試験法
- ・ エトフェンプロックス試験法
- ・ エトベンザニド試験法
- ・ エマメクチン安息香酸塩試験法
- ・ エンロフロキサシン、オキシリニック酸、オフロキサシン、オルビフロキサシン、サラフ

- ロキサシン、ジフロキサシン、ダノフロキサシン、ナリジクス酸、ノルフロキサシン及びフルメキン試験法
- ・ オキサジクロメホン及びフェノキサニル試験法
 - ・ オキシテトラサイクリン試験法（農産物）
 - ・ オキシテトラサイクリン、クロルテトラサイクリン及びテトラサイクリン試験法
 - ・ オキシポコナゾールフマル酸塩試験法
 - ・ オキサリニック酸試験法
 - ・ オクスフェンダゾール、フェバンテル及びフェンベンダゾール試験法
 - ・ オリサストロピン試験法
 - ・ オルトフェニルフェノール及びジフェニル試験法
 - ・ オルメトプリム、ジアベリジン、トリメトプリム及びピリメタミン試験法
 - ・ カフェンストール、ジフェノコナゾール、シプロコナゾール、シメトリン、チフルザミド、テトラコナゾール、テブコナゾール、トリアジメノール、フルジオキシニル、プロピコナゾール、ヘキサコナゾール及びペンコナゾール試験法
 - ・ カルタップ、ベンスルタップ及びチオシクラム試験法
 - ・ カルプロパミド試験法
 - ・ カルベンダジム、チオファネート、チオファネートメチル及びベノミル試験法
 - ・ カルボスルファン、カルボフラン、フラチオカルブ及びベンフラカルブ試験法
 - ・ カンタキサンチン試験法
 - ・ キザロホップエチル試験法
 - ・ キノメチオネート試験法
 - ・ キャプタン、クロルベンジレート、クロロタロニル及びホルペット試験法
 - ・ キンクロラック試験法
 - ・ クミルロン試験法
 - ・ クリスタルバイオレット及びメチレンブルー試験法
 - ・ グリホサート試験法
 - ・ グルホシネート試験法
 - ・ クレトジム試験法
 - ・ クロサンテル試験法
 - ・ クロジナホッププロパルギル試験法
 - ・ クロチアニジン試験法
 - ・ クロピラリド試験法
 - ・ クロフェンテジン試験法
 - ・ クロリムロンエチル及びトリベヌロンメチル試験法
 - ・ クロルスルフロロン及びメトスルフロロンメチル試験法
 - ・ クロルフェナピル及びビフェノックス試験法
 - ・ クロルフルアズロン、ジフルベンズロン、テブフェノジド、テフルベンズロン、フルフェノクスロン、ヘキサフルムロン及びルフェヌロン試験法
 - ・ クロルメコート試験法
 - ・ ゲンタマイシン試験法
 - ・ 酸化フェンブタスズ試験法
 - ・ 酸化プロピレン試験法
 - ・ シアゾファミド試験法
 - ・ シアナジン試験法

- ・ ジアフェンチウロン試験法
- ・ シアン化水素試験法
- ・ ジクラズリル及びナイカルバジン試験法
- ・ シクロキシジム試験法
- ・ ジクロシメット試験法
- ・ シクロスルファミロン試験法
- ・ ジクロフルアニド及びトリルフルアニド試験法
- ・ ジクロベニル試験法
- ・ ジクロメジン試験法
- ・ ジクロルボス及びトリクロルホン試験法
- ・ ジクワット、パラコート及びメピコートクロリド試験法
- ・ ジチアノン試験法
- ・ ジチオピル及びチアゾピル試験法
- ・ ジノカップ試験法
- ・ ジノテフラン試験法
- ・ シハロホップブチル及びジメテナミド試験法
- ・ ジヒドロストレプトマイシン及びストレプトマイシン試験法（農産物）
- ・ ジヒドロストレプトマイシン、ストレプトマイシン、スペクチノマイシン及びネオマイシン試験法
- ・ ジフェンゾコート試験法
- ・ ジフルフェニカン試験法
- ・ シフルメトフェン試験法（農産物）
- ・ シプロジニル試験法
- ・ ジメチピン試験法
- ・ ジメトモルフ試験法（農産物）
- ・ ジメトモルフ試験法（畜水産物）
- ・ シモキサニル試験法
- ・ 臭素試験法
- ・ シラフルオフエン試験法
- ・ シロマジン試験法（農産物）
- ・ シロマジン試験法（畜産物）
- ・ シンメチリン試験法
- ・ スピノサド試験法
- ・ スピラマイシン試験法
- ・ スルファキノキサリン、スルファジアジン、スルファジミジン、スルファジメトキシ、スルファメトキサゾール、スルファメトキシピリダジン、スルファメラジン、スルファモノメトキシ及びスルフィソゾール試験法
- ・ スルファジミジン試験法
- ・ セトキシジム試験法
- ・ セファゾリン、セファピリン、セファレキシン、セファロニウム、セフォペラゾン及びセフロキシム試験法
- ・ セフチオフル試験法
- ・ ゼラノール試験法
- ・ ダイムロン試験法

- ・ ダゾメット、メタム及びメチルイソチオシアネート試験法
- ・ ターバシル試験法
- ・ チアジニル試験法
- ・ チアベンダゾール及び5 - プロピルスルホニル - 1 H - ベンズイミダゾール - 2 - アミン試験法
- ・ チオジカルブ及びメソミル試験法
- ・ チルミコシン試験法
- ・ ツラスロマイシン試験法
- ・ テクロフタラム試験法
- ・ デスメディファム試験法
- ・ テプラロキシジム試験法
- ・ テレフタル酸銅試験法
- ・ トリクラベンダゾール試験法
- ・ トリクラミド試験法
- ・ トリクロロ酢酸ナトリウム塩試験法
- ・ トリシクラゾール試験法
- ・ トリネキサパックエチル試験法
- ・ トリフルミゾール試験法
- ・ トリブロムサラン及びピチオノール試験法
- ・ トルフェンピラド試験法
- ・ 鉛試験法
- ・ ニコチン試験法
- ・ ニテンピラム試験法
- ・ ノバルロン試験法
- ・ バミドチオン試験法
- ・ バリダマイシン試験法
- ・ ビオレスメトリン試験法
- ・ ピクロラム試験法
- ・ ビスピリバックナトリウム塩試験法
- ・ ヒ素試験法
- ・ ビフェナゼート試験法
- ・ ヒメキサゾール試験法
- ・ ピメトロジン試験法
- ・ プラクロストロピン試験法
- ・ プラゾキシフェン試験法
- ・ プラフルフェンエチル試験法
- ・ プリダベン試験法
- ・ プリダリル試験法
- ・ プリチオバックナトリウム塩試験法
- ・ プリデート試験法
- ・ プリフェノックス試験法
- ・ プリミジフェン試験法
- ・ プリメタニル試験法
- ・ ピルリマイシン試験法

- ・ ファモキサドン試験法
- ・ フィプロニル試験法
- ・ フェノキサプロップエチル試験法
- ・ フェンアミドン試験法
- ・ フェントラザミド試験法
- ・ フェンピロキシメート試験法
- ・ フェンヘキサミド試験法
- ・ フェンチン試験法
- ・ ブチレート試験法
- ・ フラメトピル試験法
- ・ フルアジナム試験法
- ・ フルアジホップ試験法
- ・ フルオルイミド試験法
- ・ フルカルバゾンナトリウム塩試験法
- ・ フルシラゾール試験法
- ・ フルスルファミド試験法
- ・ フルベンジアミド試験法
- ・ フルベンダゾール試験法
- ・ フルミオキサジン試験法
- ・ プロクロラズ試験法
- ・ プロシミドン試験法
- ・ フロニカミド試験法
- ・ プロパモカルブ試験法
- ・ プロヒドロジャスモン試験法
- ・ プロヘキサジオンカルシウム塩試験法
- ・ ヘキシチアゾクス試験法
- ・ ペンシクロン試験法
- ・ ベンジルベニシリン試験法
- ・ ベンゾピシクロン試験法
- ・ ペンタゾン試験法
- ・ ベンチアバリカルブイソプロピル試験法
- ・ ペントキサゾン試験法
- ・ ベンフレセート試験法
- ・ ボスカリド試験法（農産物）
- ・ ボスカリド試験法（畜産物）
- ・ ホセチル試験法
- ・ マレイン酸ヒドラジド試験法
- ・ ミクロブタニル試験法
- ・ メタアルデヒド試験法（農産物）
- ・ メタベンズチアズロン試験法
- ・ メタミトロン試験法
- ・ メチオカルブ試験法
- ・ メトコナゾール試験法
- ・ メトプレン試験法

- ・ メトリブジン試験法
- ・ メバニピリム試験法
- ・ モリネート試験法
- ・ ラクトパミン試験法
- ・ リン化水素試験法（農産物）
- ・ レバミゾール試験法

（参考）食品、添加物等の規格基準（昭和34年厚生省告示第370号）に規定する試験法

- ・ 2,4,5 - T試験法
- ・ アゾシクロチン及びシヘキサチン試験法
- ・ アミトロール試験法
- ・ アルドリン、エンドリン及びディルドリン試験法
- ・ カプタホール試験法
- ・ カルバドックス試験法
- ・ クマホス試験法
- ・ クレンブテロール試験法
- ・ クロラムフェニコール試験法
- ・ クロルプロマジン試験法
- ・ ジエチルスチルベストロール試験法
- ・ ジメトリダゾール、メトロニダゾール及びロニダゾール試験法
- ・ ダミノジッド試験法
- ・ デキサメタゾン試験法
- ・ トリアゾホス及びパラチオン試験法
- ・ - トレンボロン及び - トレンボロン試験法
- ・ 二臭化エチレン試験法
- ・ ニトロフラゾン試験法
- ・ ニトロフアントイン、フラゾリドン及びフラルタドン試験法
- ・ プロファム試験法
- ・ マラカイトグリーン試験法

シフルメトフェン試験法（農産物）

1．分析対象化合物

シフルメトフェン

， ， -トリフルオロ-*o*-トルイル酸（以下、代謝物 という。）

代謝物配糖体

2．装置

液体クロマトグラフ・質量分析計（LC/MS）

3．試薬、試液

次に示すもの以外は、総則の3に示すものを用いる。

シフルメトフェン標準品 本品はシフルメトフェン96 %以上を含み、融点は77～82 である。

代謝物標準品 本品は ， ， -トリフルオロ-*o*-トルイル酸99 %以上を含み、融点は109～113 である。

4．試験溶液の調製

1) 抽出

果実及び野菜の場合は試料20.0 gを量り採る。茶の場合は試料5.00 gに水20 mLを加え、30分間放置する。

これにアセトニトリル及び水（9：1）混液100 mLを加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物に、アセトニトリル及び水（9：1）混液50 mLを加えてホモジナイズし、上記と同様にろ過する。得られたろ液にアセトニトリルを加えて正確に200 mLとし、この20 mL（茶の場合は10 mL）を採り、40 以下で約5 mLまで濃縮する。これに水95 mLを加え、酢酸エチル及び *n*-ヘキサン（1：9）混液50 mLずつで2回振とう抽出する。抽出液を液相分離ろ紙でろ過する。

残りの水層を採り、これに塩酸4 mLを加え、還流冷却器を取り付けて、1時間加熱還流した後、放冷する。これを酢酸エチル及び *n*-ヘキサン（1：9）混液50 mLずつで2回振とう抽出し、抽出液を液相分離ろ紙でろ過する。

各抽出液を合わせ、これに2 %ジエチレングリコール含有アセトン溶液0.5 mLを加え、40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアセトン及びメタノール（2：3）混液5 mLを加えて溶かす。

2) 精製

(1) 果実及び野菜の場合

グラファイトカーボンミニカラム（500 mg）にアセトン及びメタノール（2：3）混液10 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに1)で得られた溶液を注入し、さらに、アセトン及びメタノール（2：3）混液15 mLを注入し、全溶出液を採り、これに2 %ジエチレングリコール含有アセトン溶液0.5 mLを加え、40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をアセトニトリル及び水（2：3）混液に溶解し、正確に2 mLとしたものを試験溶液とす

る。

(2) 茶の場合

1) で得られた溶液を、(1) 果実及び野菜の場合と同様に、グラファイトカーボンカラムクロマトグラフィーによる精製に供し、得られた残留物に酢酸エチル 5 mL を加えて溶かす。

トリメチルアミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラム (1,000 mg) に酢酸エチル 10 mL を注入し、流出液は捨てる。このカラムに上記の溶液を注入し、さらに、酢酸エチル 10 mL を注入し、溶出液を採る (溶出液)。次いで、アセトン 10 mL 及びメタノール 10 mL を順次注入し、各流出液は捨てる。アンモニア水及びメタノール (1 : 99) 混液 15 mL を注入し、溶出液 () を採り、これに 2 % ジエチレングリコール含有アセトン溶液 0.5 mL を加える。各溶出液を 40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。溶出液 () 及び溶出液 () の残留物をアセトニトリル及び水 (2 : 3) 混液に溶解し、各々正確に 1 mL としたものを、それぞれシフルメトフェン及び代謝物の試験溶液とする。

5. 検量線の作成

シフルメトフェン標準品及び代謝物標準品の各 0.01 ~ 0.2 mg/L を含むアセトニトリル及び水 (2 : 3) 混液の混合標準溶液を数点調製し、それぞれ 5 µL を LC/MS に注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。

6. 定量

試験溶液 5 µL を LC/MS に注入し、5 の検量線でシフルメトフェン及び代謝物の含量を求め、次式により代謝物及び代謝物配糖体を含むシフルメトフェンの含量を求める。

シフルメトフェン (代謝物及び代謝物配糖体含む) の含量 (ppm) = A + B × 2.35

A : シフルメトフェンの含量 (ppm)

B : 代謝物 (配糖体を含む) の含量 (ppm)

7. 確認試験

LC/MS により確認する。

8. 測定条件

カラム : オクタデシルシリル化シリカゲル 内径 2 mm、長さ 150 mm、粒径 5 µm

移動相 : アセトニトリル及び 0.002 mol/L 酢酸アンモニウム含有 0.1 % ギ酸溶液の混液 (2 : 3) から (19 : 1) までの濃度勾配を 10 分間で行い、(19 : 1) で 10 分間保持する。

イオン化モード : シフルメトフェン ESI (+)、代謝物 ESI (-)

主なイオン (*m/z*) : シフルメトフェン 465、代謝物 189

保持時間の目安 : シフルメトフェン 15 分、代謝物 6 分

9. 定量限界

各化合物 0.01 mg/kg

茶の場合は、各化合物 0.04 mg/kg

10．留意事項

1) 試験法の概要

シフルメトフェン、代謝物及び代謝物配糖体を試料からアセトニトリル及び水(9:1)混液で抽出し、シフルメトフェンは酢酸エチル及び*n*-ヘキサン(1:9)混液に転溶する。水層に存在する代謝物及びその配糖体は、塩酸酸性下で加熱還流し、配糖体を加水分解した後、同様に酢酸エチル及び*n*-ヘキサン(1:9)混液に転溶する。転溶液を合わせ、グラファイトカーボンミニカラムで精製し、茶の場合はさらにトリメチルアミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラムで精製した後、LC/MSで測定及び確認する方法である。シフルメトフェン及び代謝物(配糖体を含む)のそれぞれについて定量を行い、代謝物についてはその含量に換算係数を乗じてシフルメトフェンの含量に変換し、これらの和を分析値とする。

2) 注意点

本試験法は、脂肪含量が低い農産物(多くの果実、野菜及び茶等)に適用できる。なお、脂肪含量が高い農産物(アボカド等の果実、穀類、豆類及び種実類等)の試験法については現在検討中である。

代謝物配糖体は、塩酸酸性下で加熱還流することにより、代謝物に分解される。本試験法では、これを酢酸エチル及び*n*-ヘキサン(1:9)混液で抽出する。

茶の分析では、トリメチルアミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラムによる精製を追加しなければ、特にシフルメトフェンの回収が不良となる。

茶以外の農産物で、精製が不足する場合は、茶の追加精製方法、もしくは合成ケイ酸マグネシウムミニカラム(910 mg)による精製を追加するとよい。後者の操作概要を以下に示す。グラファイトカーボンミニカラム精製後の残留物をアセトン及び*n*-ヘキサン(1:19)混液5 mLに溶解し、これを合成ケイ酸マグネシウムミニカラム(同混液5 mLで洗浄したもの)に負荷した後、同混液5 mLで洗浄し、アセトン及び*n*-ヘキサン(3:7)混液10 mLでシフルメトフェンを溶出する。次いで、アセトン10 mLで洗浄後、アセトン、酢酸及び酢酸エチル(30:1:70)混液20 mLで代謝物を溶出する。

試験法では、転溶液の脱水に液相分離紙を使用しているが、無水硫酸ナトリウムによる方法を用いてもよい。

11．参考文献

なし

12．類型

C

ジメトモルフ試験法（畜水産物）

1．分析対象化合物

ジメトモルフ（*E*体）、ジメトモルフ（*Z*体）

2．装置

液体クロマトグラフ・質量分析計（LC/MS）又は液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計（LC/MS/MS）

3．試薬、試液

次に示すもの以外は、総則の3に示すものを用いる。

ジメトモルフ（*E*体及び*Z*体）標準品 本品はジメトモルフ（*E*体及び*Z*体）98 %以上を含み、融点は127～148 である。

4．試験溶液の調製

1）抽出

筋肉、肝臓、腎臓、魚介類、乳、卵及びはちみつの場合は、試料 10.0 g を量り採る。脂肪の場合は、試料 5.00 g を量り採る。

これに 0.01 mol/L 塩酸 10 mL を加え、ホモジナイズした後、アセトニトリル 50 mL、*n*-ヘキサン 25 mL 及びケイソウ土 2 g を加え、さらにホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ液からアセトニトリル層を分取し、残った *n*-ヘキサン層及びろ紙上の残留物に 0.01 mol/L 塩酸 5 mL 及びアセトニトリル 25 mL を加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。*n*-ヘキサン層を捨て、得られたアセトニトリル層を合わせ、アセトニトリルを加え正確に 100 mL とする。

この抽出液 20 mL を採り、塩化ナトリウム 3 g を加え、5 分間振とうする。静置した後、分離した水層を捨てる。

2）精製

オクタデシルシリル化シリカゲルカラムクロマトグラフィー

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム（1,000 mg）にアセトニトリル 10 mL を注入し、流出液は捨てる。このカラムに上記のアセトニトリル層を注入し、さらに、アセトニトリル 2 mL を注入し、全溶出液を 40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。残留物にアセトン及び *n*-ヘキサン（1：1）混液 2 mL を加えて溶かす。

エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲルカラムクロマトグラフィー

エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲルミニカラム（500 mg）にメタノール 5 mL 次いでアセトン及び *n*-ヘキサン（1：1）混液 10 mL を順次注入し、流出液は捨てる。このカラムに得られた溶液を注入し、さらに、アセトン及び *n*-ヘキサン（1：1）混液 20 mL を注入して、全溶出液を 40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。残留物をメタノールに溶解し、正確に 2 mL（脂肪の場合には 1 mL）としたものを試験溶液とする。

5．検量線の作成

ジメトモルフ標準品の 0.01～0.2 mg/L メタノール溶液を数点調製し、それぞれ 3 μ L を LC/MS 又は LC/MS/MS に注入し、*E*体及び*Z*体それぞれのピーク面積（又はピーク高さ）の和を用いてピーク面積法（又はピーク高法）で検量線を作成する。

6．定量

試験溶液 3 μ L を LC/MS 又は LC/MS/MS に注入し、5 の検量線でジメトモルフの含量を求める。

7．確認試験

LC/MS 又は LC/MS/MS により確認する。

8. 測定条件

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル、内径 2 ~ 2.1 mm、長さ 150 mm、粒径 3 ~ 3.5 μm

カラム温度：40

移動相：A 液及び B 液について下表の濃度勾配で送液する。

移動相流速：0.2 mL/分

A 液：5 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液

B 液：5 mmol/L 酢酸アンモニウム含有メタノール溶液

時間(分)	A 液(%)	B 液(%)
0	85	15
1	60	40
3.5	60	40
6	50	50
8	45	55
17.5	5	95
30	5	95
30	85	15

注入量：3 μL

保持時間の目安：15 ~ 17 分（E 体、Z 体の順に流出する。）

イオン化モード：

ESI (+)

主なイオン (m/z):

1) LC/MS の場合 388

2) LC/MS/MS の場合

プリカーサーイオン 388、プロダクトイオン 301、165

9. 定量限界

0.01 mg/kg

10. 留意事項

1) 試験法の概要

ジメトモルフを試料から塩酸、アセトニトリル及び *n*-ヘキサンで抽出する。*n*-ヘキサンを分離後、塩析で水を除き、オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム及びエチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲルミニカラムで精製した後、LC/MS 又は LC/MS/MS で定量し、LC/MS 又は LC/MS/MS で確認する方法である。

2) 注意点

LC/MS/MS で測定する場合はプロダクトイオンについて、 m/z : 301 を定量イオン、 m/z : 165 を確認イオンとする。

ジメトモルフはジメトモルフ (E 体) 及びジメトモルフ (Z 体) の和を分析値とする。

ジメトモルフの標準品としては、E 体及び Z 体のそれぞれの標準品を使用してもよい。また、E 体及び Z 体それぞれのピーク面積 (又はピーク高さ) を用いてピーク面積法 (又はピーク高法) で検量線を作成してもよい。

ホモジナイズの際にケイソウ土を加えなくてもよい。その場合には、吸引ろ過の際にろ過助剤としてケイソウ土を使用する。また、吸引ろ過の代わりに遠心分離など他の適切な方法を用いてもよい。

11. 参考文献

なし

12. 類型
C